

## ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У КРЫС И ЕГО КОРРЕКЦИИ СОЕДИНЕНИЕМ РЯДА 1,3,4-ТИАДИАЗИНА И ЛИПОВОЙ КИСЛОТОЙ

Данилова И.Г.<sup>1,2</sup>, Емельянов В.В.<sup>1</sup>, Гетте И.Ф.<sup>1,2</sup>, Медведева С.Ю.<sup>1,2</sup>,  
Булавинцева Т.С.<sup>1,2</sup>, Черешнева М.В.<sup>2</sup>, Сидорова Л.П.<sup>1</sup>,  
Черешнев В.А.<sup>1,2</sup>, Соколова К.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,  
г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,  
г. Екатеринбург, Россия

**Резюме.** В эксперименте *in vivo* впервые дана комплексная сравнительная оценка способности соединения L-17 (2-морфолино-5-фенил-1,3,4-тиадиазина гидробромида) и антиоксиданта липоевой кислоты (ЛК) корректировать уровень цитокинемии, метаболические нарушения и морфологические изменения в поджелудочной железе при аллоксановом диабете. Установлено, что все тестируемые соединения корректируют гипергликемию, снижают накопление гликированных белков крови. Исследуемое соединение L-17 из ряда 1,3,4-тиадиазинов обладает способностью к коррекции метаболических нарушений при аллоксановом СД, сопоставимой с таковой антиоксиданта ЛК. Однако L-17 снижает уровень исследуемых цитокинов до значений интактных животных, предотвращая развитие системных воспалительных реакций, обуславливающих повреждение органов-мишеней при СД.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, гипергликемия, воспаление, инсулин, цитокины, липоевая кислота

## CYTOKINE REGULATION OF REGENERATIVE PROCESSES IN PANCREATIC GLAND IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC RATS, AND IT CORRECTION BY 1,3,4-THIADIAZINE COMPOSITION AND LIPOIC ACID

Danilova I.G.<sup>a, b</sup>, Emelianov V.V.<sup>a</sup>, Gette I.F.<sup>a, b</sup>, Medvedeva S.Yu.<sup>a, b</sup>,  
Bulavintseva T.S.<sup>a, b</sup>, Cheresheva M.V.<sup>b</sup>, Sidorova L.P.<sup>a</sup>,  
Chereshnev V.A.<sup>a, b</sup>, Sokolova K.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** A comprehensive comparative evaluation of the ability of L-17 compound (2-morpholino-5-phenyl-1,3,4-thiadiazine) and antioxidant lipoic acid (LA) to correct blood cytokine levels, metabolic disorders

### Адрес для переписки:

Данилова Ирина Георгиевна  
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»  
Уральского отделения Российской академии наук  
620049, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.  
Тел./факс: 8 (343) 374-00-70.  
E-mail: ig-danilova@yandex.ru

### Address for correspondence:

Danilova Irina G.  
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian  
Academy of Sciences  
620049, Russian Federation, Ekaterinburg, Pervomayskaya str., 106.  
Phone: 7 (343) 374-00-70.  
E-mail: ig-danilova@yandex.ru

### Образец цитирования:

И.Г. Данилова, В.В. Емельянов, И.Ф. Гетте,  
С.Ю. Медведева, Т.С. Булавинцева, М.В. Черешнева,  
Л.П. Сидорова, В.А. Черешнев, К.В. Соколова  
«Цитокиновая регуляция регенераторных процессов  
в поджелудочной железе при аллоксановом сахарном  
диабете у крыс и его коррекции соединением ряда  
1,3,4-тиадиазина и липоевой кислотой» // Медицинская  
иммунология, 2018. Т. 20, № 1. С. 35-44.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-35-44

© Данилова И.Г. и соавт., 2018

### For citation:

I.G. Danilova, V.V. Emelianov, I.F. Gette, S.Yu. Medvedeva,  
T.S. Bulavintseva, M.V. Cheresheva, L.P. Sidorova,  
V.A. Chereshnev, K.V. Sokolova "Cytokine regulation of  
regenerative processes in pancreatic gland in alloxan-induced  
diabetic rats, and it correction by 1,3,4-thiadiazine composition  
and lipoic acid", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya  
Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 1, pp. 35-44.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-35-44

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-1-35-44

and morphological alterations in pancreas in alloxan-induced diabetes was performed for the first time, using an experimental *in vivo* model. All the tested compounds have been found to correct hyperglycemia and decreased accumulation of glycated blood proteins. The tested L-17 compound belongs to the 1,3,4-thiadiazine series and is able to correct metabolic disorders occurring in alloxan-induced diabetes comparable to activity of LA antioxidant. However, L-17 reduces the cytokine levels to the values of intact animals, that preventing development of systemic inflammatory response which causes damage of target organs in diabetes mellitus.

**Keywords:** diabetes mellitus, hyperglycemia, inflammation, insulin, cytokines, lipolic acid

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-15-00039.

## Введение

Исследование механизмов регуляции регенераторных процессов в панкреатических островках при сахарном диабете (СД) создает базу для разработки перспективных стратегий фармакологической коррекции данной патологии. Известно, что в патогенезе СД 1 типа имеют место воспалительные и аутоиммунные реакции, контролируемые иммунокомпетентными клетками крови и тканей и опосредованные цитокинами [7, 24, 25, 41]. Именно цитокины являются триггерами каскада биологических реакций при этом заболевании. Развивающаяся в результате гибели инсулиноцитов стойкая гипергликемия способствует повсеместному накоплению гликированных белков, в отношении которых также осуществляются аутоиммунные реакции. Гипергликемия приводит к развитию низкоинтенсивного системного хронического воспаления, формированию хронических осложнений СД, таких как микроангиопатии, нефропатия, ретинопатия [1, 18, 42, 45]. Регуляция воспалительных и аутоиммунных реакций иммунокомпетентными клетками осуществляется посредством секреции таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухолей-альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкин-1 (IL-1) и интерлейкин-6 (IL-6) [17, 35]. Согласно данным литературы, увеличение содержания TNF $\alpha$  в плазме крови наблюдается у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа [39, 40], причем увеличение этого показателя коррелирует с уровнем гипергликемии [18]. Отмечают повышенный уровень TNF $\alpha$  также у грызунов с аллоксановым и стрептозотоциновым диабетом [20]. Увеличение содержания TNF $\alpha$  обнаруживают не только в плазме крови и слюне больных СД [26], но также в различных тканях диабетических крыс, в том числе в сетчатке глаза [23]. IL-1 подавляет продукцию инсулина  $\beta$ -клетками и стимулирует их апоптоз [28]. Также IL-1 индуцирует NO-синтазу, вследствие чего в  $\beta$ -клетках возрастает содержание оксида азота, что в конечном итоге приводит  $\beta$ -клетки к гибели [21]. Повышенное содержание IL-6 выявлено у больных СД 1 и СД 2 типа в плазме крови [15, 22], а также в плазме крови мышей с аллоксановым диабетом

[20]. У больных СД 1 типа содержание IL-6 коррелировало с повышением уровня гликированного гемоглобина [26].

Антивоспалительное действие оказывает IL-10 [33]. Данные об изменении содержания IL-10 при СД 1 типа противоречивы, однако известно, что в процессе лечения уровень IL-10, в отличие от уровня других цитокинов, не снижался [20].

Установлено, что гиперпродукция провоспалительных цитокинов может предшествовать клинической манифестации СД у человека, обнаруживаясь еще на стадии нарушенной гликемии натощак, коррелирует с уровнем биомаркеров оксидативного стресса [19] и является предиктором развития СД у предрасположенных лиц [2].

В литературе имеются сообщения об успешном применении при СД противовоспалительных цитокинов, в частности рецепторного антагониста IL-1, показавшего гипогликемическое и гиполипидемическое действие при экспериментальном СД [3] и снижавшего риск развития микроангиопатий [14] и улучшавшего секрецию инсулина у пациентов с СД 2 типа [29].

Таким образом, цитокины в ряде случаев могут стать мишенями для терапевтического воздействия при СД, а уровни цитокинемии обоснованно претендуют на роль биомаркеров для прогнозирования СД и ранней диагностики его осложнений.

В настоящее время интенсивно проводится фармакологический скрининг химических веществ с плеiotропным действием, сочетающих способность корректировать метаболические (оксидативный стресс, неферментативное гликирование белков) и иммунологические нарушения (индукция аутоиммунных реакций, системный воспалительный ответ) при СД. Соединения, блокирующие данные патогенетические механизмы, могут стать потенциальными лекарственными средствами для терапии этого социально значимого заболевания.

В рамках научного поиска в этом направлении мы обратили внимание на ряд производных 1,3,4-тиадиазина, синтезированных на кафедре органической и биомолекулярной химии ХТИ УрФУ под руководством академика РАН О.Н. Чупахина. Как установлено нашими предыдущими исследованиями, эти вещества обладают способ-

ностью ингибировать неферментативное гликирование белков при инкубации бычьего сывороточного альбумина с глюкозой. Производные 1,3,4-тиадиазина обладают выраженными антиоксидантными свойствами, поскольку блокируют окисление аскорбиновой кислоты кислородом воздуха в модельной системе *in vitro* [15, 37]. Нами также была впервые обнаружена способность соединений ряда 1,3,4-тиадиазина корректировать течение аллоксанового СД у крыс, что выражалось в снижении гипергликемии, оксидативного стресса и накопления гликированных белков в крови и органах животных [9, 10, 12], и установлена минимально необходимая продолжительность введения соединения ряда 1,3,4-тиадиазина [11].

Тем не менее механизмы корректирующего влияния соединений ряда 1,3,4-тиадиазина при аллоксановом СД остаются недостаточно изученными. Учитывая роль хронического низкоинтенсивного системного воспаления в патогенезе СД, а также данные о противовоспалительном действии соединения ряда 1,3,4-тиадиазина на моделях экспериментального инфаркта миокарда [36] и панкреонекроза [16], представляет интерес оценить возможность коррекции регенераторных процессов в островковом аппарате поджелудочной железы и цитокинового профиля крови соединением ряда 1,3,4-тиадиазина при аллоксановом СД у крыс.

Липоевая кислота успешно применяется в терапии осложнений СД как препарат, корректирующий метаболические нарушения, инсулинорезистентность, гиперпродукцию провоспалительных цитокинов клетками иммунной системы, что было доказано на различных моделях экспериментальной патологии [34]. Данный факт определил выбор липоевой кислоты в качестве препарата сравнения в настоящем экспериментальном исследовании.

## Материалы и методы

Наиболее распространенными экспериментальными моделями СД 1 типа являются модели с использованием аллоксана и стрептозотоцина [13, 20, 31]. Однако аллоксан обладает более низким прямым цитотоксическим эффектом по сравнению со стрептозотоцином, что позволяет более точно определять сроки выбранных метаболических событий и их патофизиологические последствия [13, 31]. Прооксидантное действие аллоксана приводит к генерации активных форм кислорода и является причиной гибели  $\beta$ -клеток островков Лангерганса, которые особенно уязвимы к действию свободных радикалов вследствие низкой активности ферментов антиоксидантной защиты [32]. Аллоксан обладает

высоким сродством к SH-содержащим соединениям и, как следствие, уменьшает содержание глутатиона в клетке. Кроме того, аллоксан ингибирует глюкокиназу, необходимую для секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой [38].

Все эксперименты на животных были одобрены Этическим комитетом Института иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (г. Екатеринбург, Россия) и выполнены в соответствии с принципами, сформулированными в Директиве 2010/63/ЕС Европейского парламента и Европейского Совета от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях (Официальный журнал Европейского союза, 2010 г.). Животные, используемые в исследовании, были помещены в карантин в виварии и на момент начала эксперимента были клинически здоровы. Все животные содержались в равных условиях (12 часов света / 12 часов темноты), были помещены по 5 животных в клетку, их кормили в соответствии с обычным графиком со свободным доступом к воде.

Эксперименты проводили на 40 крысах-самцах линии Вистар (по 10 крыс в группе). Животные были одного возраста и веса. СД моделировали введением аллоксана по ранее разработанной методике в течение 3 суток в суммарной дозе 300 мг/кг массы животного [6]. Было сформировано 5 групп животных: интактная (1), контрольная с аллоксановым СД (2), опытная с аллоксановым СД и его коррекцией соединением L-17 ряда 1,3,4-тиадиазина (3) и опытная с аллоксановым СД и его коррекцией липоевой кислотой (4). Синтетическое соединение L-17 ряда 1,3,4-тиадиазина и вещество сравнения липоевую кислоту (препарат «Октолипен», Россия) вводили внутримышечно в дозе 40 мг/кг массы животного 3 раза в неделю в течение 4 недель. На 30 сутки животных выводили из эксперимента инъекцией 40 мг/кг пентобарбитала натрия. В плазме крови крыс определяли концентрации глюкозы унифицированным глюкозооксидазным методом набором Витал диагностикс (СПб), в цельной крови — гликированного гемоглобина ( $HbA_{1c}$ ) методом колоночной хроматографии наборами «Диабет-тест» (Фосфосорб, Москва). В плазме крови крыс также определяли содержание инсулина методом ИФА наборами реактивов фирмы Millipore Corporation, кортикостерона — наборами фирмы Immunodiagnostic Systems Ltd, интерлейкинов IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , инсулиноподобного ростового фактора 1 (IGF-1) — наборами фирмы Thermo Scientific на автоматическом анализаторе LAZURITE AUTOMATED ELISA SYSTEM.

Образцы ткани поджелудочной железы отделяли от жировой ткани и погружали в 10% ней-

тральный формалин на 24 часа при комнатной температуре. Подготовку образцов для гистологического исследования осуществляли с использованием автоматического процессора Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин. С серийных срезов толщиной 3–4 мкм удаляли парафин, для этого стекла помещались последовательно в ксилол, в 100% спирт и в растворы с постепенным снижением концентрации спирта до полностью водного раствора [27]. Далее, не давая стеклам высохнуть, каждый первый срез из серии окрашивали гематоксилин-эозином и проводили морфологическое и морфометрическое исследование. Микроскопическое исследование производили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе ВидеоТест «Морфология» 5.0. Иммуногистохимическое исследование поджелудочной железы лабораторных животных проводили по стандартному протоколу с использованием Autostainer DAKO на формалин-фиксированных парафиновых срезах толщиной 3–4 мкм. Демаскировку антигенов осуществляли путем высокотемпературной обработки в цитратном буфере с использованием Pascal DAKO [27]. Визуализацию  $\beta$ -клеток осуществляли с помощью антител к инсулину (clon E11D7, Millipore). Первичные антитела использовали в рабочем разведении 1:100 и инкубировали в течение 60 минут при 37 °С. Затем осуществляли инкубацию с вторичными biotin goat anti-mouse Igs (multiple adsorption) (BD) в разведении 1:50 и инкубировали в течение 30 минут при 37 °С. Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему Novolink™ Polymer Detection System (Novocastra Lab., Ltd), включающую хромогенный субстрат 3,3-диаминобензидин (DAБ) в забуферном растворе [27]. ДАБ-позитивные клетки идентифицировали по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы клеток. Для исключения неспецифического окрашивания проводили постановку негативного и позитивного контроля.

Морфометрические исследования островкового аппарата поджелудочной железы в каждой экспериментальной группе животных включали следующие показатели: подсчет общего количества островков и количества островков, обладающих положительной реакцией на инсулин, в 1 мм<sup>2</sup> паренхимы поджелудочной железы (N/мм<sup>2</sup>), диаметра панкреатических островков (μм); общей клеточности островка, количества  $\beta$ -клеток. Определение функциональной активности  $\beta$ -клеток осуществляли в микропрепаратах поджелудочной железы, специфически окрашенных на инсулин, путем оценки интенсивности экспрессии антигена (инсулина) в клетках по их оптической плотности с помощью программы анализа изображения ВидеоТест «Морфология» 5.0.

Статистическая обработка результатов эксперимента проводилась с применением программного комплекса Biostatistica и MS Excel. Для сравнения двух независимых групп по количественному признаку использован непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия между показателями считались статистически значимыми, если уровень значимости  $p$  не превышал 0,05.

## Результаты

Введение аллоксана, непосредственно повреждающего  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, приводило к снижению плазменной концентрации инсулина на 34% с  $0,66 \pm 0,19$  до  $0,42 \pm 0,06$  нг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ), наблюдалась тенденция к увеличению концентрации кортикостерона на 23% с  $65,8 \pm 7,2$  до  $81,0 \pm 13,93$  нг/мл (табл. 1). Абсолютный дефицит инсулина и преобладание эффектов контринсулярных гормонов приводили к выраженной гипергликемии и гликированию гемоглобина (табл. 1). Так, концентрация глюкозы в крови крыс составила  $20,0 \pm 1,3$  ммоль/л, а HbA<sub>1c</sub> —  $7,5 \pm 0,8\%$ , против  $6,4 \pm 0,5$  ммоль/л и  $4,3 \pm 0,3\%$  у интактных животных соответственно.

Соединение L-17 существенно изменяло картину метаболических нарушений при формировании аллоксанового СД. Важным моментом его корригирующего действия был антигипергликемический эффект. К окончанию эксперимента гипергликемия в группе СД+L-17 была на 22% ниже, чем в контрольной группе ( $p_{2-3} < 0,05$ ). При этом наблюдалось закономерное снижение концентрации HbA<sub>1c</sub> до уровней интактных животных (табл. 1), что на 49% ниже ( $p_{2-3} < 0,05$ ), чем в контрольной группе. Соединение L-17 приводило к значимому увеличению уровня инсулина в 2,2 раза по сравнению с показателем диабетических крыс ( $p_{2-3} < 0,05$ ) и в 1,5 раза по сравнению с показателем интактных животных ( $p_{1-3} < 0,05$ ), однако уровень кортикостерона оставался повышенным. Применение соединения сравнения липоевой кислоты позволило существенно снизить уровень гипергликемии и HbA<sub>1c</sub> по сравнению с показателями крыс при СД ( $p_{2-4} < 0,05$ ). Введение липоевой кислоты оказало выраженный антигипергликемический эффект: концентрации глюкозы и HbA<sub>1c</sub> в крови снизились до  $7,2 \pm 1,5$  ммоль/л и до  $4,5 \pm 0,9\%$  соответственно, хотя уровень глюкозы не достиг значения показателя интактных животных. Корригирующий эффект липоевой кислоты мог быть связан с сохранением на уровне интактных крыс концентрации инсулина  $0,70 \pm 0,19$  нг/мл ( $p_{1-4} > 0,05$ ), несмотря на остававшуюся повышенной концентрацию кортикостерона —  $88 \pm 9,0$  нг/мл ( $p_{1-4} > 0,05$ ).

При гистологическом исследовании поджелудочной железы контрольной группы животных (№ 2) через 30 суток после введения аллоксана были выявлены структурные нарушения со стороны междольковых сосудов и микроциркуляторного русла в виде эндотелиоцитоза, полнокровия и капилляростаза. При оценке островкового аппарата поджелудочной железы в данной группе животных отмечались дистрофические изменения панкреатоцитов в виде кариопикноза и кариолизиса, присутствовали признаки зернистой дистрофии или вакуолизации цитоплазмы.

Гистологическое исследование поджелудочной железы животных с аллоксановым диабетом и введением соединения L-17 (группа 3) показало сохранение структурных нарушений сосудов микроциркуляции в органе. Однако в панкреатических островках обнаруживались единичные клетки с кариопикнозом и лизисом ядер. Введение липоевой кислоты крысам с аллоксановым диабетом (группа 4) уменьшало выраженность деструктивных изменений в эндокринной части, микроциркуляции органа и предотвращало развитие нарушений кровообращения в сосудах.

В поджелудочной железе животных с введением L-17 на фоне развития аллоксанового СД отмечалось значительное снижение общего количества панкреатических островков относительно этого показателя в интактной и контрольной группах (табл. 2). Вместе с этим выявлено увеличение общего количества клеток в островках относительно показателя интактной группы и животных с аллоксановым СД, количество  $\beta$ -клеток соответствовало их уровню у животных с аллоксановым СД (табл. 2).

Количество панкреатических островков у животных с введением липоевой кислоты на фоне развития аллоксанового диабета соответствовало уровню показателя у животных с аллоксановым диабетом. Панкреатические островки характеризовались увеличенными размерами относительно островков интактных животных и животных после введения ЛК, при этом количество сохранных  $\beta$ -клеток было больше в 2 раза относительно показателя животных с аллоксановым диабетом (табл. 2).

Согласно данным литературы, гипергликемия при СД служит триггером продукции провоспалительных цитокинов иммунокомпетентными клетками [19]. В нашем исследовании это выражалось в увеличении содержания IL-1 $\alpha$  с  $318 \pm 9,7$  до  $359 \pm 13,6$  пг/мл и IL-6 с  $409,3 \pm 10,0$  до  $532,0 \pm 36,5$  пг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ) и компенсаторном увеличении концентрации IL-10 с  $27,0 \pm 3,0$  до  $99,4 \pm 1,1$  пг/мл ( $p_{1-2} < 0,05$ ) у крыс с СД по сравнению с показателями интактных животных. Уровни TNF $\alpha$ , IGF-1 практически не изменялись.

Введение соединения L-17 приводило к существенному снижению плазменных концентраций IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, тогда как содержание IGF-1 превышало значения, характерные для интактной и контрольной группы. Введение липоевой кислоты при аллоксановом СД у крыс корректировало уровни цитокинемии, снижая содержание провоспалительных IL-1 $\alpha$  до  $260,9 \pm 26,6$  пг/мл и IL-6 до  $451,0 \pm 14,8$  пг/мл и, в отличие от соединения L-17, еще более увеличивая концентрацию противовоспалительного IL-10 до  $115,6 \pm 13,6$  пг/мл ( $p_{2-4} < 0,05$ ,  $p_{1-4} > 0,05$ ).

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗЫ, ГЛИКИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА, ИНСУЛИНА И КОРТИКОСТЕРОНА В КРОВИ ЖИВОТНЫХ**

TABLE 1. CONTENTS OF GLUCOSE, GLYCATED HEMOGLOBIN, INSULIN AND CORTICOSTERONE IN BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Группа Group	Интактная группа Intact group	СД Diabetes mellitus	СД + L-17 Diabetes mellitus + L-17	СД + липоевая кислота Diabetes mellitus + lipoic acid
	1	2	3	4
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	$6,4 \pm 0,5$	$20,1 \pm 1,3^*$	$15,6 \pm 3,4^* **$	$7,2 \pm 1,5^* **$
HbA <sub>1c</sub> , %	$4,3 \pm 0,3$	$7,5 \pm 0,8^*$	$3,8 \pm 0,8^{**}$	$4,5 \pm 0,9^{**}$
Инсулин, нг/мл Insulin, ng/ml	$0,66 \pm 0,19$	$0,42 \pm 0,06^*$	$0,94 \pm 0,50^{**}$	$0,70 \pm 0,19^{**}$
Кортикостерон, нг/мл Corticosterone, ng/ml	$65,8 \pm 7,28$	$81,0 \pm 13,93$	$97,6 \pm 10,55$	$88 \pm 9,0$

**Примечание.** \* – достоверные отличия с интактной группой;  $p < 0,05$ ; \*\* – достоверные отличия от группы СД,  $p < 0,05$ .

Note. \*, significant differences with intact group,  $p < 0.05$ ; \*\*, significant differences against the diabetes group,  $p < 0.05$ .

ТАБЛИЦА 2. МОРФОМЕТРИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 2. MORPHOMETRIC DATA FOR PANCREATIC GLANDS FROM EXPERIMENTAL ANIMALS

Группа Group	Интактная группа Intact group	СД Diabetes mellitus	СД + L-17 Diabetes mellitus + L-17	СД + липоевая кислота Diabetes mellitus + lipoic acid
	1	2	3	4
Количество ПО/мм <sup>2</sup> Паренхимы Number of PIs per mm <sup>2</sup> of parenchyma	1,77±0,15	1,38±0,23	0,41±0,06* **	0,81±0,12*
Диаметр ПО, мкм Mean diameter of PIs, μm	80,2±6,8	120,2±12,5*	90,2±7,4	106,5±5,1*
Общая клеточность ПО/мм <sup>2</sup> ПО Total PI cellularity/mm <sup>2</sup>	9 874±954	9 929±412	16950±3180* **	10026±501
Количество β-клеток/мм <sup>2</sup> ПО Number of the β-cells per one PI/mm <sup>2</sup>	6683±354	2966±706*	1582±148*	4776±449* **
Доля β-клеток, % Proportion of β cells, %	69,0±3,9	29,9±7,5*	11,6±1,5*	48,2±4,8* **

Примечание. См. примечание к таблице 1. ПО – панкреатический островок.

Note. As in Table 1. PI, pancreatic islet.

## Обсуждение

Увеличение уровня цитокинов IL-6 и IL-1α в плазме крови крыс с аллоксановым СД является закономерным явлением, отражающим развитие воспалительного процесса в островковой части поджелудочной железы крыс [24]. Запуск воспалительного процесса вызывает введение аллоксана, который, как известно, обладает направленным токсическим действием в отношении инсулиноцитов [30]. Согласно данным литературы, деструктивные процессы в панкреатических островках инициируют миграцию макрофагов, которые осуществляют фагоцитоз и презентацию β-клеточных антигенов Naïve CD4<sup>+</sup>T-лимфоцитам, в результате инициируя аутоиммунную реакцию против β-клеток [42]. Более того, макрофаги способны секретировать TNFα, IL-1, IL-6 и активные формы кислорода, способствующие деструкции β-клеток [7, 41]. Данные морфометрического анализа, снижение содержания инсулина в плазме крови и выраженная гипергликемия у диабетических крыс контрольной группы являются подтверждением убыли инсулиноцитов. В процессе развития аллоксанового диабета воспалительные реакции становятся системными, поскольку происходит повсеместное накопление гликированных белков [1, 41]. Отражением этого процесса является обнаруженное в данном исследовании увеличение количества гликозилированного гемоглобина на 30 сутки исследования. Применение соединения L-17 позволило существенно скорректировать показатели нарушенного метаболизма и его

иммуно-эндокринной регуляции при развитии аллоксанового СД у крыс. Введение L-17 оказало выраженный антигипергликемический эффект, предотвращало разрушение островков Лангерганса и увеличивало их клеточность.

Интересным механизмом действия соединения L-17 явилась способность корректировать уровень цитокинемии, снижая их системное действие на органы-мишени диабетического повреждения. Увеличение уровня IGF-1 в плазме крови при применении L-17 вносит положительный вклад в антигипергликемический механизм действия препарата. Увеличение содержания IGF-1 у крыс, подвергавшихся воздействию L-17, соответствует увеличению уровня инсулина и снижению уровня глюкозы и гликированного гемоглобина. Известно, что IGF-1 является посредником действия соматотропного гормона и обеспечивает регуляцию анаболических эффектов этого гормона и может также, соединяясь с рецепторами инсулина, оказывать влияние на утилизацию глюкозы [5, 13]. На экспериментальных моделях СД 1 типа было установлено, что IGF-1 предотвращает апоптоз инсулиноцитов и способствует их пролиферации [43, 44].

Известно антиоксидантное и антигликирующее действие липоевой кислоты [4, 8]. Поэтому способность липоевой кислоты предотвращать гипoinsулинемию, снижать гипергликемию и накопление HbA<sub>1c</sub> можно связать с защитой β-клеток островков Лангерганса от гибели в условиях индуцированного аллоксаном оксидативного стресса. Кроме того, в нашем исследовании были



ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

TABLE 3. CYTOKINE CONTENTS IN BLOOD PLASMA OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Группа Group	Интактная группа Intact group	СД Diabetes mellitus	СД + L-17 Diabetes mellitus + L-17	СД + липоевая кислота Diabetes mellitus + lipoic acid
	1	2	3	4
IL-1α (пг/мл) IL-1α (pg/ml)	318,0±9,7	359,3±13,6*	180,7±17,2* **	260,9±26,6**
IL-6 (пг/мл) IL-6 (pg/ml)	409,3±10,0	532,0±36,5*	420,6±11,4* **	451,0±14,8* **
IFNγ (пг/мл) IFNγ (pg/ml)	13,0±1,1	10,2±0,4	8,6±0,5* **	13,1±1,9
TNFα (пг/мл) TNFα (pg/ml)	52,0±0,3	52,7±0,9	51,6±0,2	51,7±0,5
IL-10 (пг/мл) IL-10 (pg/ml)	27,0±3,0	99,4±1,1*	63,5±7,9* **	115,6±13,6* **
IGF-1 (пг/мл) IGF-1 (pg/ml)	7397±85,1	7109,0±96,0	8146,0±152,2* **	7 594,4±71,9

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As in Table 1.

получены доказательства иммуностропного противовоспалительного действия липоевой кислоты при моделировании аллоксанового СД.

Применение в качестве корректора веществ, обладающих различным механизмом действия, приводило к увеличению количества сохраненных островков и содержания в них β-клеток, что способствовало коррекции метаболических нарушений. Соединение L-17, которое обладает

множественными механизмами действия, также снижало степень повреждения островкового аппарата поджелудочной железы, однако увеличивало клеточность панкреатического островка, более существенно корригировало уровни цитокинемии, увеличивало содержание IGF-1. Эта особенность действия соединения L-17 может обуславливать уникальный механизм его противо-диабетической активности в эксперименте.

## Список литературы / References

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Кремская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений: Руководство для врачей. М.: Медицина, 2005. 512 с. [Balabolkin M.I., Klebanova E.M., Kreminskaya V.M. Treatment of diabetes and its complications: Manual for Physicians]. Moscow: Medicine, 2005. 512 p.
2. Беспалова И.Д., Рязанцева Н.В., Калужин В.В., Афанасьева Д.С., Мурашев Б.Ю., Осихов И.А. Системное воспаление в патогенезе метаболического синдрома и ассоциированных с ним заболеваний // Сибирский медицинский журнал, 2013. № 2. С. 5-9. [Bespalova I.D., Ryazantseva N.V., Kalyuzhin V.V., Afanasyeva D.S., Myrashev B.Yu., Osikhov I.A. Systemic inflammation in pathogenesis of metabolic syndrome and associated diseases. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2013, no. 2, pp. 5-9. (In Russ.)]
3. Бухтиярова И.П., Дроговоз С.М., Шекина Е.Г., Ищенко А.М. Влияние ралейкина на липидный обмен в условиях модельного диабета // Вестник фармации, 2014. Т. 65, № 3. С. 89-94. [Buhtiyarova I.P., Drogovoz S.M., Shchokina K.G., Ishchenko A.M.. The influence of raleukin on lipid metabolism in the model of diabetes. *Vestnik farmatsii = Bulletin of Pharmacy*, 2014, Vol. 65, pp. 89-94. (In Russ.)]
4. Волчегорский И.А., Мирошниченко И.Ю., Рассохина Л.М., Файзуллин Р.М. Влияние реамберина и α-липовой кислоты на устойчивость к острой церебральной ишемии при экспериментальном сахарном диабете // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова, 2016. Т. 116, № 6. С. 53-59. [Volchegorsky I.A., Miroshnichenko I.Yu., Rassokhina L.M., Faizullin R.M. Influence of reamberin and α-lipoic acid on resistance to acute cerebral ischemia in experimental diabetes mellitus. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova = Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov*, 2016, Vol. 116, no. 6, pp. 53-59. (In Russ.)]
5. Геннадик А.Г., Нелаева А.А. Роль инсулиноподобного фактора роста-I в метаболизме, регуляции клеточного обновления и процесса старения // Ожирение и метаболизм, 2010. № 2. С. 10-15. [Gennadinik A.G., Nelaeva A.A. The role of insulin-like growth factor-I in metabolism, regulation of cellular renewal and aging processes. *Ozhirenie i metabolism = Obesity and Metabolism*, 2010, no. 2, pp. 10-15. (In Russ.)]
6. Данилова И.Г., Гетте И.Ф. Способ моделирования аллоксанового диабета. Патент на изобретение №2534411; 27.11.2014. Бюл. № 33. [Danilova I.G., Gette I.F. Bulavintseva T.S. The method of modeling alloxan diabetes. Patent for invention No. 2534411; 27.11.2014. Bulletin No. 33].

7. Дедов И.И., Фадеев В.В. Введение в диабетологию: Руководство для врачей. М.: Берег, 1998. 200 с. [Dedov I.I., Fadeev V.V. Introduction to Diabetology: Manual for Physicians]. Moscow: Bereg, 1998. 200 p.
8. Емельянов В.В., Леонтьев Д.В., Ищенко А.В., Булавинцева Т.С., Саватеева Е.А., Данилова И.Г. Атомно-силовая микроскопия эритроцитов и метаболические нарушения при экспериментальном сахарном диабете и его коррекции липоевой кислотой // Биофизика, 2016. Т. 61, № 5. С. 922-926. [Emelianov V.V., Leontiev D.V., Ishchenko A.V., Bulavintseva T.S., Savateeva E.A., Danilova I.G. Atomic force microscopy of erythrocytes and metabolic disturbances in experimental diabetes mellitus and its correction by lipoic acid. *Biofizika = Biophysics*, 2016, Vol. 61, no. 5, pp. 922-926. (In Russ.)]
9. Емельянов В.В., Саватеева Е.А., Мусальникова А.В., Сидорова Л.П., Перова Н.М., Новикова А.П., Булавинцева Т.С., Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Черешнев В.А. Перспективы поиска новых противодиабетических средств среди серосодержащих гетероциклических соединений // Аллергология и иммунология, 2013. Т. 14, № 2. С. 141-142. [Emelianov V.V., Savateeva E.A., Musalnikova A.V., Sidorova L.P., Perova N.M., Novikova A.P., Bulavintseva T.S., Gette I.F., Danilova I.G., Maksimova N.E., Mochulskaia N.N., Chereshev V.A. Prospects for the search for new antidiabetics among sulfur-containing heterocyclic compounds. *Allergologiya i immunologiya = Allergology and Immunology*, 2013. Vol. 14, no. 2, pp 141-142. (In Russ.)]
10. Емельянов В.В., Саватеева Е.А., Сидорова Л.П., Цейтлер Т.А., Булавинцева Т.С., Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Чупахин О.Н., Черешнев В.А. Коррекция метаболических нарушений при аллоксановом сахарном диабете производными 1,3,4-тиадиазинов // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2 (1). С. 487-489. [Emelianov V.V., Savateeva E.A., Sidorova L.P., Tseitler T.A., Bulavintseva T.S., Gette I.F., Danilova I.G., Maksimova N.E., Mochulskaia N.N., Chupakhin O.N., Chereshev V.A. Correction of metabolic disorders in alloxan diabetes mellitus with 1,3,4-thiadiazine derivatives. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2 (1), pp. 487-489. (In Russ.)]
11. Емельянов В.В., Саватеева Е.А., Сидорова Л.П., Цейтлер Т.А., Гетте И.Ф., Булавинцева Т.С., Смирных С.Е., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Чупахин О.Н., Черешнев В.А. 2-морфолино-5-фенил-6Н-1,3,4-тиадиазин корригирует метаболические нарушения при формировании аллоксанового сахарного диабета у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2016. Т. 162, № 7. С. 42-45. [Emelianov V.V., Savateeva E.A., Sidorova L.P., Tseitler T.A., Gette I.F., Bulavintseva T.S., Smirnykh S.E., Maksimova N.E., Mochulskaia N.N., Chupakhin O.N., Chereshev V.A. 2-Morpholino-5phenyl-6H-1,3,4-thiadiazine corrects metabolic disorders during the development of alloxan diabetes mellitus in rats. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2016, Vol. 162, no. 7, pp. 42-45. (In Russ.)]
12. Емельянов В.В., Сидорова Л.П., Саватеева Е.А., Булавинцева Т.С., Гетте И.Ф., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Черешнев В.А., Чупахин О.Н. Применение соединений класса 1,3,4-тиадиазинов в качестве средства коррекции экспериментального аллоксанового сахарного диабета. Патент RU № 2597764 от 10.07.2016. Приоритет от 16.12.2014. [Emelianov V.V., Sidorova L.P., Savateeva E.A., Bulavintseva T.S., Gette I.F., Maksimova N.E., Mochulskaia N.N., Chereshev V.A., Chupakhin O.N. The use of compounds of the 1,3,4-thiadiazine class as a means of correcting experimental alloxan diabetes. Patent RU No. 2597764 dated July 10, 2016. Priority from 16.12.2014].
13. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патопфизиология. Т. 2. Основы патохимии. СПб.: Элби-СПб., 2001. 687 с. [Zaichik A.Sh., Churilov L.P. Pathophysiology. Vol. 2. Fundamentals of pathochemistry]. St. Petersburg: Elbi-SPb., 2001. 687 p.
14. Насонов Е.Л., Елисеев М.С. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека // Научно-практическая ревматология, 2016. Т. 54, № 1. С. 60-67. [Nasonov E.L., Eliseev M.S. Role of interleukin 1 in the development of human diseases. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2016, Vol. 54, no. 1, pp. 60-77. (In Russ.)]
15. Сидорова Л.П., Цейтлер Т.А., Емельянов В.В., Саватеева Е.А., Максимова Н.Е., Мочульская Н.Н., Черешнев В.А., Чупахин О.Н. 2-Тиоморфолин-5-арил-6Н-1,3,4-тиадиазин гидробромиды и их способность ингибировать неферментативное гликозилирование белков // Химико-фармацевтический журнал, 2017. № 51. С. 11-14. [Sidorova L.P., Zeitler T.A., Emelianov V.V., Savateeva E.A., Maksimova N.E., Mochulskaia N.N., Chereshev V.A., Chupakhin O.N. 2-Thiomorpholin-5-aryl-6H-1,3,4-thiadiazine hydrobromides and their ability to inhibit non-enzymatic glycosylation of proteins. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2017, no. 51, pp. 11-14. (In Russ.)]
16. Сарапульцев П.А., Чупахин О.Н., Сарапульцев А.П., Ранцев М.А., Медведева С.Ю., Сидорова Л.П., Данилова И.Г. Влияние соединения из группы замещенных 5R1, 6R2-1,3,4-тиадиазин-2-аминов на течение системного воспаления // Цитокины и воспаление, 2013. Т. 12, № 3. С. 40-44. [Sarapultsev P.A., Chupakhin O.N., Sarapultsev A.P., Rantsev M.A., Medvedeva S.Yu., Sidorova L.P., Danilova I.G. The effects of the compound of the group of substituted 5R1, 6R2-1,3,4-thiadiazine-2-amines on the course of systemic inflammation. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2013, Vol. 12, no. 3, pp. 40-44. (In Russ.)]
17. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты: Руководство для врачей. СПб.: НТФ «Полисан», 1998. 113 с. [Freidlin I.S. The immune system and its defects: Manual for Physicians]. St. Petersburg: NTF Polisan, 1998. 113 p.
18. Bianchi E., Ripandelli G., Taurone S., Feher J., Plateroti R., Kovacs I., Magliulo G., Orlando M.P., Micera A., Battaglione E., Artico M. Age and diabetes related changes of the retinal capillaries: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 2016, Vol. 29, no. 1, pp. 40-53.
19. Butkowski E.G., Jelinek H.F. Hyperglycaemia, oxidative stress and inflammatory markers. *Redox Rep.*, 2016, pp. 1-8.



20. Chen T., Gao J., Xiang P., Chen Y., Ji J., Xie P., Wu H., Xiao W., Wei Y., Wang S., Lan J., Ji H., Yan T. Protective effect of platycodin D on liver injury in alloxan-induced diabetic mice via regulation of Treg/Th17 balance. *Int. Immunopharmacol.*, 2015, Vol. 26, no. 2, pp. 338-348.
21. Corbett J.A., Kwon G., Turk J., McDaniel M.L. IL-1 beta induces the coexpression of both nitric oxide synthase and cyclooxygenase by islets of Langerhans: activation of cyclooxygenase by nitric oxide. *Biochemistry*, 1993, Vol. 32, no. 50, pp. 13767-13770.
22. Cutando A., Montero J., Gómez-de Diego R., Ferrera M.J., Lopez-Valverde A.. Effect of topical application of melatonin on serum levels of C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in patients with type 1 or type 2 diabetes and periodontal disease. *J. Clin. Exp. Dent.*, 2015, Vol. 7, no. 5, pp. 628-633.
23. Dennis M.D., Kimball S.R., Fort P.E., Jefferson L.S. Regulated in development and DNA damage 1 is necessary for hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in the retina of diabetic rodents. *J. Biol. Chem.*, 2015, Vol. 290, no. 6, pp. 3865-3874.
24. Donath M.Y., Störling J., Maedler K., Mandrup-Poulsen T. Inflammatory mediators and islet beta-cell failure: a link between type 1 and type 2 diabetes. *J. Mol. Med. (Berl.)*, 2003, Vol. 81, no. 8, pp. 455-470.
25. Heier M., Margeirsdottir H.D., Brunborg C., Hanssen K.F., Dahl-Jørgensen K., Seljeflot I. Inflammation in childhood type 1 diabetes; influence of glycemic control. *Atherosclerosis*, 2015, Vol. 238, no. 1, pp. 33-37.
26. Kuehl M.N., Rodriguez H., Burkhardt B.R., Alman A.C. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , matrix-metalloproteinases 8 and 9 Levels in the saliva are associated with increased hemoglobin A1c in type 1 diabetes subjects. *PLoS ONE*, 2015, Vol. 10, no. 4, e0125320. doi: 10.1371/journal.pone.0125320.
27. Kumar G.L., Rudbeck L. Education guide. Immunohistochemical (IHC) staining methods. 2009. Dako North America, Carpinteria, California. 160 p.
28. Lagathu C., Yvan-Charvet L., Bastard J.P., Maachi M., Quignard-Boulangé A., Capeau J., Caron M. Long-term treatment with interleukin-1 $\beta$  induces insulin resistance in murine and human adipocytes. *Diabetologia*, 2006, no. 49, pp. 2162-2173.
29. Larsen C.M., Faulenbach M., Vaag A., Vølund A., Ehlers J.A., Seifert B., Mandrup-Poulsen T., Donath M.Y. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 2007, Vol. 356, no. 15, pp. 1517-1526.
30. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008, no. 51, pp. 216-226.
31. Like A.A., Rossini A.A. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science*, 1976, no. 193, pp. 415-417.
32. Malaisse W. Alloxan toxicity to the pancreatic B-cell. *Biochem. Pharmacol.*, 1982, no. 31, pp. 3527-3534.
33. Mollazadeh H., Cicero A.F.G., Blesso C.N., Pirro M., Majeed M., Sahebkar A. Immune modulation by curcumin: The role of interleukin-10. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2017, pp. 1-13.
34. Moura F.A., de Andrade K.Q., dos Santos J.C., Goulart M.O. Lipoic acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2015, Vol. 15, no. 5, pp. 458-483.
35. Nicola N.A. Guidebook to cytokines and their receptors. Oxford; New York: Oxford University Press, 1994. 176 p.
36. Sarapultsev A.P., Chupakhin O.N., Sarapultsev P.A., Rantsev M.A., Medvedeva S.U., Sidorova L.P., Danilova I.G. Effect of a new class of compounds of the group of substituted 5R1, 6H2-1,3,4-thiadiazine-2-amines on the inflammatory and cytokine response in experimental myocardial infarction. *Current Vascular Pharmacology*, 2015, no. 13, pp. 43-53.
37. Sidorova L.P., Tseitler T.A., Perova N.M., Emelianov V.V., Savateeva E.A., Maksimova N.E., Mochulskaya N.N., Chereshev V.A., Chupakhin O.N. Synthesis of new 1,3,4-thiadiazines capable of inhibiting nonenzymatic glycosylation of proteins. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2015, Vol. 49, no. 8, pp. 501-550.
38. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, 2001, no. 50, pp. 536-546.
39. Sun M., Yang J., Wang J., Hao T., Jiang D., Bao G., Liu G. TNF- $\alpha$  is upregulated in T2DM patients with fracture and promotes the apoptosis of osteoblast cells *in vitro* in the presence of high glucose. *Cytokine*, 2016, no. 80, pp. 35-42.
40. Tangvarasittichai S., Pongthaisong S., Tangvarasittichai O. Tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-6, C-reactive protein levels and insulin resistance associated with type 2 diabetes in abdominal obesity women. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2016, Vol. 31, no. 1, pp. 68-74.
41. Wagner D. Type 1 Diabetes – pathogenesis, genetics and immunotherapy. Publisher: InTech, Chapters published, 2011. 670 p.
42. Willcox A., Richardson S.J., Bone A.J., Foulis A.K., Morgan N.G. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clin. Exp. Immunol.*, 2009, no. 155, pp. 173-181.
43. Withers D.J., Burks D.J., Towery H.H., Altamuro S.L., Flint C.L., White M.F. Irs-2 coordinates Igf-1 receptor-mediated beta-cell development and peripheral insulinsignalling. *Nat. Genet.*, 1999, Vol. 23, no. 1, pp. 32-40.
44. Xiao X., Gaffar I., Guo P., Wiersch J., Fischbach S., Peirish L., Song Z., El-Gohary Y., Prasad K., Shiota C., Gittes G.K. M2 macrophages promote beta-cell proliferation by up-regulation of SMAD7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2014, Vol. 111, no. 13, pp. 1211-1220.
45. Zhu T., Meng Q., Ji J., Lou X., Zhang L. Toll-like receptor 4 and tumor necrosis factor-alpha as diagnostic biomarkers for diabetic peripheral neuropathy. *Neurosci. Lett.*, 2015, no. 585, pp. 28-32.

**Авторы:**

**Данилова И.Г.** — д.б.н., доцент, заведующая лабораторией морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; заведующая кафедрой медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Емельянов В.В.** — к.м.н., доцент кафедры иммунохимии Химико-технологического института, доцент кафедры медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук и математики, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Гетте И.Ф.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; старший научный сотрудник кафедры иммунохимии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Медведева С.Ю.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; доцент кафедры медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Булавинцева Т.С.** — младший научный сотрудник лаборатории морфологии и биохимии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; младший научный сотрудник кафедры иммунохимии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Черешнева М.В.** — д.м.н., главный научный сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

**Сидорова Л.П.** — к.х.н., доцент кафедры органической и биомолекулярной химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Черешнев В.А.** — д.м.н., профессор, академик, директор ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук; заведующий кафедрой иммунохимии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Соколова К.В.** — аспирант кафедры медицинской биохимии и биофизики Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Authors:**

**Danilova I.G.**, PhD, MD (Biology), Assistant Professor, Head, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Emelianov V.V.**, PhD (Medicine), Assistant Professor, Department of Immunochimistry, Institute of Chemical Engineering; Assistant Professor, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Science and Mathematics, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Gette I.F.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Senior Research Associate, Department of Immunochimistry, Institute of Chemical Engineering, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Medvedeva S.Yu.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Bulavintseva T.S.**, Junior Research Associate, Associate, Laboratory of Morphology and Biochemistry, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Junior Research Associate, Department of Immunochimistry, Institute of Chemical Engineering, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Chereshneva M.V.**, PhD, MD (Medicine), Main Research Associate, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

**Sidorova L.P.**, PhD (Chemistry), Assistant Professor, Department of Organic and Biomolecular Chemistry, Institute of Chemical Engineering, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Chereshnev V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Director, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Immunochimistry, Institute of Chemical Engineering, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

**Sokolova K.V.**, Postgraduate Student, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Institute of Natural Sciences and Mathematics, B.N. Yeltsin Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

Поступила 18.09.2017  
Отправлена на доработку 25.09.2017  
Принята к печати 10.12.2017

Received 18.09.2017  
Revision received 25.09.2017  
Accepted 10.12.2017